

10/521669  
PCT/KR 03/01427

RO/AR 18.07.2003.

REC'D 06 AUG 2003

WIPO PCT

대한민국 특허청  
KOREAN INTELLECTUAL  
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto  
is a true copy from the records of the Korean Intellectual  
Property Office.

출원번호 : 10-2002-0042791 Application Number	PRIORITY DOCUMENT SUBMITTED OR TRANSMITTED IN COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)
출원년월일 : 2002년 07월 20일 Date of Application	JUL 20, 2002
출원인 : 한국과학기술연구원 Applicant(s)	KOREA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

2003 년 07 월 14 일

특허청

COMMISSIONER



## 【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0010
【제출일자】	2002.07.20
【국제특허분류】	A61K 9/00
【발명의 명칭】	파클리탁셀의 가용화용 조성을 및 그의 제조 방법
【발명의 영문명칭】	Composition for solubilization of paclitaxel and preparation method thereof
【출원인】	
【명칭】	한국과학기술연구원
【출원인코드】	3-1998-007751-8
【대리인】	
【성명】	박장원
【대리인코드】	9-1998-000202-3
【포괄위임등록번호】	2000-005976-8
【발명자】	
【성명의 국문표기】	정혜선
【성명의 영문표기】	CHUNG, Hesson
【주민등록번호】	611117-2030217
【우편번호】	402-715
【주소】	인천광역시 남구 관교동 쌍용아파트 3동 507호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	정서영
【성명의 영문표기】	JEONG, Seo Young
【주민등록번호】	560310-1019120
【우편번호】	411-747
【주소】	경기도 고양시 일산구 주엽2동 문촌마을 라이프아파트 205 동 501호
【국적】	KR

## 【발명자】

【성명의 국문표기】 권익찬  
 【성명의 영문표기】 KWON, Ick Chan  
 【주민등록번호】 590302-1690820  
 【우편번호】 139-230  
 【주소】 서울특별시 노원구 하계동 시영7단지아파트 706동 704호  
 【국적】 KR

## 【발명자】

【성명의 국문표기】 박영택  
 【성명의 영문표기】 PARK, Yeong Taek  
 【주민등록번호】 580601-1821012  
 【우편번호】 425-735  
 【주소】 경기도 안산시 본오3동 태영아파트 203동 602호  
 【국적】 KR

## 【발명자】

【성명의 국문표기】 이인현  
 【성명의 영문표기】 LEE, In Hyun  
 【주민등록번호】 751202-1560314  
 【우편번호】 156-011  
 【주소】 서울특별시 동작구 신대방1동 600-99  
 【국적】 KR

## 【발명자】

【성명의 국문표기】 육순홍  
 【성명의 영문표기】 YUK, Soon Hong  
 【주민등록번호】 590826-1056217  
 【우편번호】 305-755  
 【주소】 대전광역시 유성구 어은동 한빛아파트 133동 1105호  
 【국적】 KR

## 【발명자】

【성명의 국문표기】 최영욱  
 【성명의 영문표기】 CHOI, Young Wook  
 【주민등록번호】 580726-1388219

【우편번호】	137-813
【주소】	서울특별시 서초구 반포본동 주공아파트 76동 501호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	8 박재형
【성명의 영문표기】	PARK, Jae Hyung
【주민등록번호】	480314-1056511
【우편번호】	137-040
【주소】	서울특별시 서초구 반포동 551-6
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	9 정진욱
【성명의 영문표기】	CHUNG, Jin Wook
【주민등록번호】	600707-1101117
【우편번호】	137-779
【주소】	서울특별시 서초구 서초4동 삼풍아파트 19동 1101호
【국적】	KR
【심사청구】	청구
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사 를 청구합니다. 대리인 박장원 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	20 면 29,000 원
【가산출원료】	37 면 37,000 원
【우선권주장료】	0 건 0 원
【심사청구료】	72 항 2,413,000 원
【합계】	2,479,000 원
【감면사유】	정부출연연구기관
【감면후 수수료】	1,239,500 원
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통

**【요약서】****【요약】**

본 발명은 파클리탁셀의 가용화를 위한 새로운 조성을 및 그것의 제조 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 상기 조성을은 1종 이상의 모노글리세라이드(monoglyceride) 계 화합물 4~90 중량%, 1종 이상의 기름 (oil) 0.01~90 중량% 및 파클리탁셀 (paclitaxel) 0.01 ~ 20 중량%로 이루어진다. 또한, 본 발명은 1종 이상의 모노글리세라이드 (monoglyceride)계 화합물 4~90 중량%, 1종 이상의 기름 (oil) 0.01~90 중량%, 1 종 이상의 유화제 0.01~90 중량% 및 파클리탁셀 (paclitaxel) 0.01 ~ 20 중량%를 포함하는 파클리탁셀 가용화용 조성을에 관한 것이다. 본 발명의 조성을을 사용하는 경우 파클리탁셀이 가용화되고, 수용액에 쉽게 분산되며, 분산된 이후에도 파클리탁셀이 침전되지 아니하며, 장내 점막흡착성이 우수하여, 체내 투여시 생체이용율이 매우 커지므로 파클리탁셀의 전달체계로서 매우 적합하다.

**【대표도】**

도 5

## 【명세서】

## 【발명의 명칭】

파클리탁셀의 가용화용 조성물 및 그의 제조 방법{Composition for solubilization of paclitaxel and preparation method thereof}

## 【도면의 간단한 설명】

도 1은 본발명의 실시예 1과 2의 파클리탁셀의 가용화 조성물을 경구 투여한 후 혈중 파클리탁셀 및 그 대사산물의 총농도를 ELISA 법으로 정량한 그래프이다. 비교군으로 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol®을 정맥주사하였다.

- ● - ; 본발명의 파클리탁셀의 가용화 조성물을 경구로 투여한 군 (파클리탁셀 1 mg 투여, 조성물의 무게비, 모노올레인:트리카프릴린:파클리탁셀= 66:33:1, 실시예 1의 조성물),
- ○ - ; 본발명의 파클리탁셀의 가용화 조성물을 경구로 투여한 군 (파클리탁셀 1 mg 투여, 조성물의 무게비, 모노올레인:트리카프릴린:파클리탁셀= 65:33:2, 실시예 2의 조성물),
- ▲ - ; Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol®을 정맥주사한 군 (파클리탁셀 10 µg)도 2는 파클리탁셀의 함량을 달리한 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화 조성물을 경구 투여한 후 혈중 파클리탁셀 및 그 대사산물의 총농도를 ELISA 법으로 정량한 그래프이다. 비교군으로 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol®을 경구투여하였다.

- ● - ; 본발명의 파클리탁셀의 가용화 조성물을 경구로 투여한 군 (파클리탁셀 1 mg 투여, 조성물의 무게비, 모노올레인:트리카프릴린:트윈 80:파클리탁셀= 55:28:16:1, 실시예 3의 조성물),

- ○ - ; 본발명의 파클리탁셀의 가용화 조성물을 경구로 투여한 군 (파클리탁셀 1 mg 투여, 조성물의 무게비, 모노올레인:트리카프릴린:트윈 80:파클리탁셀= 55:27:16:2, 실시예 9의 조성물),

- ▲ - ; 본발명의 파클리탁셀의 가용화 조성물을 경구로 투여한 군 (파클리탁셀 1 mg 투여, 조성물의 무게비, 모노올레인:트리카프릴린:트윈 80:파클리탁셀= 54:27:16:3, 실시예 10의 조성물),

- △ - ; Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol®을 경구투여한 군 (파클리탁셀 1 mg 투여)

도 3은 본발명의 실시예 11의 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화 조성물을 경구 투여한 후 혈중 파클리탁셀 및 그 대사산물의 총농도를 ELISA 법으로 정량한 그래프이다. 비교군으로 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol®을 정맥주사하였다.

- ● - ; 본발명의 파클리탁셀의 가용화 조성물을 경구로 투여한 군 (파클리탁셀 1 mg 투여, 조성물의 무게비, 모노올레인:트리카프릴린:플루로닉 F-68:파클리탁셀= 55:28:16:1, 실시예 11의 조성물),

- ○ - ; Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol??을 정맥주사한 군 (파클리탁셀 10  $\mu$ g)

도 4는 본발명의 실시예 4의 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화 조성물을 단독으로 또는 베라파밀 1 mg 과 병용하여 경구 투여한 후 혈중 파클리탁셀 및 그 대사산물의 총농도를 ELISA 법으로 정량한 그래프이다.

- ● - ; 본발명의 파클리탁셀의 가용화 조성물을 경구로 투여한 군 (파클리탁셀 1 mg 투여, 조성물의 무게비, 모노올레인:트리카프릴린:플루로닉 F-68 파클리탁셀=55:28:16:1, 실시예 4의 조성물),

- ○ - ; 본발명의 파클리탁셀의 가용화 조성물을 베라파밀과 병용하여 경구로 투여한 군 (파클리탁셀 1 mg 투여, 조성물의 무게비, 모노올레인:트리카프릴린:플루로닉 F-68 파클리탁셀= 55:28:16:1, 실시예 4의 조성물 + 1 mg 베라파밀)

도 5는 파클리탁셀의 가용화 조성물 (모노올레인:트리카프릴린:트윈 80:파클리탁셀= 55:28:16:1, 무게비)을 경구 투여한 후 혈중 파클리탁셀의 농도를 HPLC 법으로 정량한 그래프이다. 비교군으로 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol®을 정맥주사하였다.

- ● - ; 본발명의 파클리탁셀의 가용화 조성물을 경구로 투여한 군 (파클리탁셀 1 mg)

- ○ - ; Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol??을 정맥주사한 군 (파클리탁셀 40  $\mu$ g)

도 6은 본발명의 실시예 3의 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화 조성물을 복강내 또는 근육내 투여한 후 혈중 파클리탁셀 및 그 대사산물의 총농도를 ELISA 법으로 정량한 그래프이다.

- ● - ; 본발명의 파클리탁셀의 가용화 조성물을 복강내 투여한 군 (파클리탁셀 1 mg 투여, 조성물의 무게비, 모노올레인:트리카프릴린:트윈 80:파클리탁셀= 55:28:16:1, 실시예 3의 조성물),

- ○ - ; 본발명의 파클리탁셀의 가용화 조성물을 근육내 투여한 군 (파클리탁셀 1 mg 투여, 조성물의 무게비, 모노올레인:트리카프릴린:트윈 80:파클리탁셀= 55:28:16:1, 실시예 3의 조성물)

### 【발명의 상세한 설명】

#### 【발명의 목적】

#### 【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<22> 본 발명은 파클리탁셀의 가용화를 위한 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

<23> 파클리탁셀는 항암제로서, 난소암, 유방암, 식도암, 흑색종, 백혈병 등 각종 암에 대해 현저한 세포독성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 현재 임상요법에 사용되고 있는 파클리탁셀 제제는 미국 Bristol-Myers Squibb 항암제에 비해서도 물에 대한 용해도가 매우 낮기 때문에 농축 에멀젼 (emulsion preconcentrate, self-emulsifying system) 형태로 사용되고 있다. Taxol®은 파클리탁셀을 폴리옥실 35 캐스터 오일 (polyoxyl 35 castor oil)이라는 크레모포어 EL (Cremophor EL), 폴리옥실에틸화 캐스터 오일 (polyoxylethylated castor oil), 폴리옥시에톡시화 캐스터 오일 (polyoxyethoxylated castor oil)의 혼합물과 무수 알코올 (dehydrated alcohol)과 섞인 용액 형태의 주사제이다(미국특허 제 5438072호 참조). 그러나, 이 제제는 크레모포어의 독성이 적고 물리적 안정성이 높은 제제를 개발 및 용량에 많은 제한이 따른다. 따라서, 독성이 적고 물리적 안정성이 높은 제제를 개

발하기 위하여 지질 에멀젼, 중합 미셀(polymeric micelle), 리포좀 등을 이용한 연구가 활발히 진행되고 있고 이들에 대한 다수의 특허가 등록되어 있다. 에멀젼 제제의 경우 일반적으로 많이 사용되는 오일 및 유화제를 사용하는 에멀젼을 비롯하여 고체 지질 나노입자(solid lipid nanoparticle), 농축 에멀젼 등 다양한 특허가 등록되어 있다. 리포좀, 중합 나노입자, 중합 미셀을 이용한 가용화 기술도 최근 수년간 다양하게 개발되었다. 이러한 파클리탁셀 제제의 개발은 그 동안 다른 난용성 약물을 개발하며 축적된 기술을 바탕으로 급속도로 진행되고 있다.

<24> 또한, 파클리탁셀은 현재 전이성 난소암과 유방암 등으로 사용이 제한되어 있으나, 3상 임상실험이 끝나면 다양한 종류의 암, 특히 국내에 많은 전이성 고형암 (폐암, 간암) 등에 처방될 것이 유력하므로 유용성이 지대하며 시장성이 큰 항암제이다.

<25> 제제적인 측면에서 볼 때 시판되고 있는 Taxol®은 파클리탁셀이 매우 난용성이기 때문에 주사전 주사제 원액을 희석할 때 침전물이 생성되는 것이 문제로 지적되고 있다. 이러한 침전생성 문제를 고려하여 주사제로 개발된 것이 in-line filter를 주입용 주사제인데, 이 제제는 24시간 이상 약물을 투여해야 한다는 불편이 단점으로 지적되고 있다. 또한 주입을 위해 주사제 원액을 생리식염수 등에 희석할 때 사용되어지는 PVC 인퓨전 백(infusion bag)은 가소제를 용출시킴으로써 인체에 대한 안전성에 대한 문제점을 놓고 있다. 또한, 약리학적 측면에서는 부형제로 사용되어지는 크레모포어 EL은 환자에 대한 과민반응, 혈관이완, 호흡곤란, 무기력, 고혈압 등이 큰 부작용을 일으키는 것으로 알려져 있다. 따라서, 제제적인 측면과 약리학적 측면에서 지적된 약물의 안정성과 인체에 대한 안전성을 확보하기 위해서 다른 투약경로에 대한 연구와 그에 따른 제제연구가 필요한 실정이다.

<26> 대체 투여경로로서 경구투여 방법이 고려되어 왔으나, 경구투여시에 위장관 상피세포에 존재하는 P-당단백질 (P-Glycoprotein)의 방출 효과(efflux effect)에 의하여, 약물이 세포 내로 잘 흡수되지 않는다는 점이 큰 문제점으로 지적되어 왔다. 현재는 다양한 P-당단백질 억제제가 연구 보고되어 있으며, 신코닌(cinchonin)을 비롯하여  $Ca^{2+}$  채널 저해제인 베라파밀(verapamil)과 디히드로피리딘[dihydropyridines, 예컨대, 니페디핀(nifedipine), 니카디핀(nicardipine), 니트렌디핀(nitrendipine)], 칼모듈린 길항제인 트리플루오로페라진(trifluoroperazine), 항고혈압제인 레세르핀(reserpine), 빈카알칼로이드 (Vinca alcaloid)인 빈크리스틴 (vincristine)과 빈블라스틴 (vinblastine), 스테로이드인 프로게스테론, 항부정맥제인 아미다론 (amiodarone)과 퀴니딘 (quinidine), 구충제인 퀴나크린(quinacrine)과 퀴닌(quinine), 면역억제제인 사이클로스포린 A(cyclosporine A), 스타우로스포린 (staurosporine) 및 타크로리무스 (tacrolimus) 등이 알려져 있다. 이러한 P-당단백질 억제제들은 경구투여시 파클리탁셀의 흡수율을 높여 줄 뿐 아니라 암세포에 존재하는 P-당단백질을 억제함으로써 MDR(Multidrug Resistance)을 극복할 수 있도록 하는 좋은 가능성을 지니고 있다. 다른 한편으로, 파클리탁셀은 간 마이크로좀 효소 (liver microsomal enzyme)에 의해 대사되는 것으로 알려져 있는데, 파클리탁셀은 CYP2C8과 CYP3A4에 의해 각각 6- $\alpha$ -히드록시파클리탁셀과 3' - $p$ -히드록시파클리탁셀로 대사되는 것으로 알려져 있다. 이에 대해 사이클로스포린 A는 파클리탁셀의 6- $\alpha$ -히드록시파클리탁셀형성을 저해하며, 항암제인 독소류비신(doxorubicin), 에토포사이드(etoposide, VP-16), 시스플라틴(cisplatin) 등은 3' - $p$ -히드록시파클리탁셀의 생성을 저해하고, 베라파밀, 타모시펜(tamoxifen)은 파클리탁셀이 6- $\alpha$ -히드록시파클리탁셀과 3' - $p$ -히드록시파클리탁셀로 대사되는 것을 저해하는

것으로 알려져 있으므로, 이러한 약물과의 병용투여를 통하여 파클리탁셀의 생체이용률을 증가시킬 수 있을 것으로 생각되어진다.

<27> 파클리탁셀의 가용화를 위하여 개발된 기존제형으로는 여러 가지가 있지만, 지질 및 오일을 이용한 대표적인 예는 택솔® (Taxol®)이다. 이밖에도 지방유제 (US6391832 Medical emulsion for lubrication and delivery of drugs; US6348491 Oil-in-water emulsion for encapsulating paclitaxel), 또는 물에 분산시키면 투명한 콜로이드형 분산계를 형성하는 농축액(pre-concentrate) 등이 있다 (US6267985 Clear oil-containing pharmaceutical compositions; US6294192 Triglyceride-free compositions and methods for improved delivery of hydrophobic therapeutic agents). 특히, 농축액의 경우 물에 분산될 경우 400 nm에서 흡광도를 측정했을 때 0.3 이하로 아주 작은 입자의 분산계 (clear oil composition)를 형성한다.

<28> 이는 본발명의 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 경우 물에 잘 분산되지 않거나, 물에 분산되어도 400 nm에서의 흡광도가 0.38 이상(대개 1 ~ 4)에 이르는 것과는 대조를 이룬다. 즉, 기존 발명에서는 파클리탁셀을 가용화시키는 나노크기의 입자 또는 그의 농축액 (pre-concentrate)을 만들기 위하여 노력하여 왔던 반면, 본 발명의 조성물은 오히려 입자로 잘 분산되지 않거나, 분산되더라도 입자의 크기가 수 마이크로미터에 이르고 불안정한 분산계를 이루면서 침전을 형성하지 아니하고, 장내에서 높은 점막흡착성을 갖는 파클리탁셀의 조성물을 포함한다.

<29> 파클리탁셀을 경구로 전달하기 힘든 이유 중 하나는 파클리탁셀 제형을 희석하면 파클리탁셀이 침전되기 때문에, 희석하기 전에 안정한 조성으로 존재하더라도, 분산계내에서는 시간이 경과함에 따라 침전물을 형성하는 문제점 때문이다. 침전을 형성한 파클

리탁셀은 장내에서 전혀 흡수되지 않고 배출되어 버린다. 희석 시 침전을 형성하는 문제점을 해결한 파클리탁셀 제형의 경우에는, 전술한 바와 같이, 위장관의 p-당단백질의 방해 때문에 그 흡수율이 낮아진다.

<30> 본 발명에서는 파클리탁셀의 경구 투여 시, 장내 흡착력이 높은 모노올레인(monoolein)을 사용하였다. 파클리탁셀은 모노올레인에 용해되지만, 물과 접촉하여 모노올레인이 큐빅상(Cubic phase)을 만들면 시간이 경과함에 따라 침전을 형성한다. 따라서, 파클리탁셀의 용해도가 높은 기름을 첨가하여 물과 접촉하더라도 파클리탁셀의 침전이 형성되지 않는 유성 조성물을 제조하였다. 큐빅상의 경우, 약 60 %가 물로 이루어진 반면, 기름을 10 % 이상 첨가하면, 물과 접촉하더라도 큐빅상을 형성하지 않고, 약 5~10 %의 물을 함유한 무정형(amorphous)의 조성을 이룬다. 특히, 이러한 조성 내에서는 파클리탁셀이 침전을 형성하지 않는다. 또한 이러한 조성은 장벽에 넓은 범위에 걸쳐서 잘 흡착된다.

<31> 현재까지 알려진 경구용 파클리탁셀 조성물 중에서, P-당단백질 억제제 등과의 병용투여 없이 생체이용율이 높은 경구용 파클리탁셀 조성물은 개발된 예가 없다. 또한, 지금까지 보고된 바에 따르면, P-당단백질 억제제 등과 병용투여를 한 경우에도 생체이용율은 극히 낮은 수준이다.

#### 【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<32> 상기한 바와 같은, 물과 접촉 시 침전 형성 및 낮은 체내 흡수율과 같은 기존의 파클리탁셀 제제의 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명은 단독으로 또는 P-당단백질 억제제와 병용 투여시 체내흡수율을 효과적으로 증대시키고 장내 점막흡착성이 뛰어난 파클리탁셀의 가용화용 조성물 및 그 제조 방법을 제공한다.

**【발명의 구성 및 작용】**

<33> 본 발명은 물과 접촉하여도 침전을 형성하지 아니하며, 장기간 안정성을 유지하며, 당내 점막흡착성이 우수하여 체내 흡수율이 우수한 파클리탁셀 조성물 및 그의 제조 방법에 관한 것이다.

<34> 보다 상세하게, 본 발명은 한 가지 이상의 모노글리세라이드(monoglyceride)계 화합물과 한 가지 이상의 기름(oil)을 파클리탁셀(paclitaxel)과 혼합하여 제조되는 파클리탁셀 가용화용 조성물 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

<35> 또한, 본 발명은 한 가지 이상의 모노글리세라이드계 화합물, 한 가지 이상의 기름 및 한 가지 이상의 유화제를 파클리탁셀과 혼합하여 제조되는 유화제를 포함한 파클리탁셀 가용화용 조성물 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

<36> 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

<37> 본 발명은 파클리탁셀의 가용화용 조성물을 제공한다.

<38> 구체적으로, 상기 조성물은 한 가지 이상의 모노글리세라이드계 화합물 4~90 중량%, 한 가지 이상의 기름 0.01~90 중량% 및 파클리탁셀 0.01 ~ 20 중량%를 포함한다(단, 상기 수치는 조성물의 총중량을 기준으로 한 것이다).

<39> 상기 조성물은 한 가지 이상의 모노글리세라이드, 한 가지 이상의 기름 (oil) 및 파클리탁셀 (paclitaxel)을 상온에서 또는 가온하여 섞어서 제조된다.

<40> 상기 모노글리세라이드계 화합물로서 포화 또는 불포화된 C<sub>10</sub>~C<sub>22</sub>인 모노글리세라이드계 화합물 중에서 1 가지 이상을 선택하여 사용하는 것이 바람직하다. 본 발명의 모노글리세라이드계 화합물로서 모노올레인(Monoolein), 모노팔미톨레인

(Monopalmitolein), 모노미리스톨레인(Monomyristolein), 모노일레이딘(Monoelaidin), 모노이루이신(Monoerucin) 또는 식물성 또는 동물성 기름의 트리글리세라이드로부터 반합성된 모노글리세라이드의 혼합물을 사용할 수 있으며, 보다 바람직하게는 모노올레인을 사용할 수 있다.

- <41> 상기 기름으로서 파클리탁셀을 용해시킬 수 있는 트리글리세라이드, 요오드화 기름, 식물성 기름 또는 동물성 기름을 사용하는 것이 바람직하다.
- <42> 상기 트리글리세라이드로는 포화 또는 불포화된 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>인 모노글리세라이드계 화합물 중에서 한 가지 이상 선택하여 사용하는 것이 바람직하다. 예컨대, 트리아세틴(triacetin), 트리부티린(tributyrin), 트리카프로인(tricaproin), 트리카프릴린(tricaprylin), 트리카프린(tricaprin), 또는 트리올레인(triolein) 등이 사용될 수 있다.
- <43> 상기 요오드화 오일로서 리파이오돌, 요오드화 양귀비씨 기름(iodized poppy seed oil), 에티오돌(ethiodol) 또는 요오드화 대두유(iodized soybean oil) 등이 사용될 수 있다.
- <44> 상기 식물성 기름으로서 콩기름, 면실유, 올리브유, 양귀비씨 기름, 홍화씨기름 또는 참기름 등이 사용될 수 있다.
- <45> 상기 동물성 기름으로서 스쿠알란 또는 스쿠알렌 등이 사용될 수 있다.
- <46> 또한, 상기 조성물은 조성물의 총중량에 대하여 5 중량% 이하의 양으로 기타 첨가제를 추가적으로 함유할 수 있다. 예를 들어, 파클리탁셀의 가용성을 증진시키기 위하여 알코올, 폴리올 또는 크레모포어 등을 추가적으로 함유할 수 있으며, 산화 방지를 위해

토코페롤, 토코페롤 아세테이트 등을 첨가할 수 있으며, 또한, 파클리탁셀의 세포내 흡수성을 증진시키기 위하여 지방산, 지방산의 에스테르 유도체 또는 지방산의 알코올 유도체 등을 추가적으로 함유할 수 있다. 또한, 증상에 따라 적절한 기타 다른 난용성 약물을 추가적으로 함유할 수 있다.

<47> 상기 난용성약물로서 다른 항암제나, P-당단백질 억제제 또는 간대사제해제 등이 사용될 수 있다.

<48> 이 때, 상기 다른 항암제로서 독소루비신, 시스플라틴, 카보플라틴, 카무스틴 (BCNU), 다카바진, 에도포사이드, 플루오로우라실 (5-FU) 또는 파클리탁셀 유도체 등이 사용 될 수 있다. 상기 파클리탁셀 유도체로서 도시탁셀, 브로모탁셀, 탁소티어 등이 사용 될 수 있다.

<49> 상기 P-당단백질 억제제로서 신코닌(cinchonin), 칼슘 채널 저해제, 칼모듈린 길항제, 빈카 알칼로이드(Vinca alcaloid), 항부정맥제, 스테로이드, 항고혈압제, 구충제, 또는 면역억제제 등이 사용 될 수 있다. 상기 칼슘 채널 저해제로서 베라파밀 (verapamil), 니페디핀(nifedipine), 니카디핀(nicardipine), 또는 니트렌디핀 (nitrendipine)과 같은 디히드로피리딘(dihydropyridines) 등이 사용 될 수 있다. 상기 칼모듈린 길항제로서 트리플루오로페라진(trifluoroperazine) 등이 사용 될 수 있다. 상기 항 고혈압제로서 레세핀(reserpine) 등이 사용 될 수 있다. 상기 빈카 알칼로이드로서 빈크리스틴(vincristine), 또는 빈블라스틴(vinblastine) 등이 사용 될 수 있다. 상기 스테로이드로서 프로게스테론 등이 사용 될 수 있다. 상기 항부정맥제로서 아미오다론(amiodarone), 또는 퀴니딘(quinidine) 등이 사용 될 수 있다. 상기 구충제로서 퀴나크린(quinacrine), 또는 퀴닌(quinine) 등이 사용 될 수 있다. 상기 면역억제제로서 사

이클로스포린류, 스타우로스포린(staurosporine), 또는 태크로리미스(tacrolimus) 등이 사용 될 수 있다.

<50> 상기 간 대사 저해제로서 사이클로스포린 A, 독소루비신(doxorubicin), 에토포사이드(etoposide, VP-16) 또는 시스플라틴(cisplatin)과 같은 항암제, 베라파밀(verapamil), 또는 타모시펜(tamoxifen) 등이 사용 될 수 있다.

<51> 특히, 본 발명에 의한 파클리탁셀의 가용화용 조성물을 약물 전달 체계에 사용할 경우에는 경구투여, 구강내 투여, 점막투여, 비강내투여, 복강내 투여, 피하주사, 근육주사, 경피 투여 및 종양내 투여 등과 같은 투여방법이 가능하며, 경구 투여가 가장 바람직하다.

<52> 상기 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조방법은

<53> 1) 조성물 총 중량에 대하여 4 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 모노글리세라이드 계 화합물을 0.01 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 기름과 함께 50 °C 이하로 가온하여 완전히 용해시켜 점성의 액체를 만드는 단계 (단계 1); 및

<54> 2) 상기 단계 1의 가용화용 조성물을 0.01 내지 20 중량%의 파클리탁셀과 혼합하여 균일한 상을 제조하는 단계 (단계 2)로 이루어진다.

<55> 상기 단계 2의 혼합 과정 중, 50 °C 이하의 온도로 가온하여 소니케이션을 하거나 저어줄 수 있다.

<56> 또한, 상기 파클리탁셀의 가용화용 조성물은 다음과 같은 방법으로 제조할 수 있다

<57> 1) 조성물의 총 중량에 대하여, 4 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 모노글리세라이드계 화합물 및 0.01 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 기름 0.01 내지 20 중량%의 파클리탁셀과 혼합하는 단계 (단계 1); 및

<58> 2) 상기 단계 1의 혼합물을과 함께 완전히 녹여 균일한 액상을 제조하는 단계 (단계 2)로 이루어진다.

<59> 상기 단계 2의 혼합 과정 중 50 °C 이하의 온도로 가온하여 소니케이션을 하거나 저어줄 수 있다.

<60> 상기 명시한 제조방법들은 파클리탁셀의 가용화용 조성물을 제조하기 위한 예이며, 이외에도 여러 가지 제조방법을 사용할 수 있다.

<61> 또한, 본 발명은 유화제를 포함하는 파클리탁셀의 가용화용 조성물을 제공한다.

<62> 구체적으로, 상기 조성물은 한 가지 이상의 모노글리세라이드계 화합물 4~90 중량%, 한 가지 이상의 기름 0.01~90 중량%, 한 가지 이상의 유화제 0.01~90 중량% 및 파클리탁셀 0.01 ~ 20 중량%로 이루어진다(단, 상기 수치는 조성물 총 중량을 기준으로 한 것이다).

<63> 상기 조성물은 한 가지 이상의 모노글리세라이드, 한 가지 이상의 기름, 한 가지 이상의 유화제 및 파클리탁셀을 상온에서 또는 가온하여 섞어서 제조된다.

<64> 상기 모노글리세라이드계 화합물로서 포화 또는 불포화된 C<sub>10</sub>-C<sub>22</sub>인 모노글리세라이드계 화합물 중에서 1 가지 이상을 선택하여 사용하는 것이 바람직하다. 본 발명의 모노글리세라이드계 화합물로서 모노올레인(Monoolein), 모노팔미톨레인(Monopalmitolein), 모노미리스톨레인(Monomyristolein), 모노일레이딘(Monoelaidin),

모노이루이신(Monoerucin) 및 식물성 또는 동물성 기름의 트리글리세라이드로부터 반합성된 모노글리세라이드의 혼합물을 사용할 수 있으며, 보다 바람직하게는 모노올레인을 사용할 수 있다.

- <65> 상기 기름으로서 파클리탁셀을 용해시킬 수 있는 트리글리세라이드, 요오드화 기름, 식물성 기름 또는 동물성 기름을 사용하는 것이 바람직하다.
- <66> 상기 트리글리세라이드로서 포화 또는 불포화된 C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>인 모노글리세라이드계 화합물 중에서 한 가지 이상 선택하여 사용하는 것이 바람직하다. 예컨대, 트리아세틴, 트리부티린, 트리카프로인, 트리카프릴린, 트리카프린, 또는 트리올레인 등이 사용될 수 있다.
- <67> 상기 요오드화 오일로서 리파이오돌, 요오드화 양귀비씨 기름, 에티오돌 또는 요오드화 대두유 등이 사용될 수 있다.
- <68> 상기 식물성 기름으로서 콩기름, 면실유, 올리브유, 양귀비씨 기름, 흥화씨기름 또는 참기름 등이 사용될 수 있다.
- <69> 상기 동물성 기름으로서 스쿠알란 또는 스쿠알렌 등이 사용될 수 있다.
- <70> 상기 유화제로서 인지질, 비이온성 계면 활성제, 음이온성 계면 활성제, 양이온성 계면 활성제 또는 담즙산 (bile acid) 등을 사용하는 것이 바람직하다.
- <71> 상기 인지질로는 포스파티딜콜린 (Phosphatidyl Choline) 유도체, 포스파티딜에탄올아민 (Phosphatidyl ethanolamine) 유도체, 포스파티딜세린 (Phosphatidyl serine) 유도체, 또는 친수성 고분자가 결합된 지질 (polymeric lipid) 등이 사용될 수 있다.

<72> 상기 비이온성 계면 활성제로는 폴록사머 (Poloxamer; Pluronic; 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 공중합체), 솔비탄 에스테르 (Sorbitan esters; Span), 폴리옥시에틸렌솔비탄 (polyoxyethylene sorbitans; Tween), 또는 폴리옥시에틸렌 에테르 (polyoxyethylene ethers; Brij) 등이 사용될 수 있다.

<73> 상기 음이온성 계면 활성제로는 포스파티딜세린 유도체, 포스파티딘산 (Phosphatidic acid) 유도체 또는 소듐 도데실 설페이트 (sodium dodecyl sulfate; 이하 'SDS'라 약칭함) 등이 사용될 수 있다.

<74> 상기 양이온성 계면 활성제로는 1,2-다이올레일-3-트리메틸암모니움 프로판 (1,2-dioleyl-3-trimethylammonium propane; 이하 'DOTAP'이라 약칭함), 다이메틸 다이옥타데실암모니움 클로라이드 (dimethyldioctadecylammonium chloride; 이하 'DDAB'라 약칭함), N-[1-(1,2-다이올레일옥시)프로필]-N,N,N-트리메틸암모니움 클로라이드 (N-[1-(1,2-dioleyloxy)propyl]-N,N,N-trimethylammonium chloride; 이하 'DOTMA'라 약칭함), 1,2-다이올레일-3-에틸포스포콜린 (1,2-dioleyl-3-ethylphosphocholine; 이하 'DOEPC'라 약칭함), 또는 3 $\beta$ -[N-[(N',N'-다이메틸아미노)에탄]카바모일]콜레스테롤 (3 $\beta$ -[N-[(N',N'-dimethylamino)ethan]carbamoyl]chlosterol; 이하 'DC-Chol'이라 약칭함) 등이 사용될 수 있다.

<75> 상기 담즙산으로는 콜린산 (cholic acid), 그의 염 또는 그의 유도체, 데옥시콜린산 (Deoxycholic acid), 그의 염 또는 그의 유도체, 리토콜린산 (Lithocholic acid), 그의 염 또는 그의 유도체, 또는 체노콜린산 (Chenocholic acid), 그의 염 또는 그의 유도체 등이 사용될 수 있다.

<76> 또한, 상기 조성물은 기타 첨가제를 조성물의 총 중량에 대하여 5 중량% 이하로 추가적으로 포함할 수 있다. 예를 들어, 파클리탁셀의 가용성을 증진시키기 위하여 알코올, 폴리올 또는 크레모포어 등을 추가적으로 함유할 수 있으며, 산화 방지를 위해 토코페롤, 토코페롤 아세테이트 등을 첨가할 수 있으며, 파크리탁셀의 세포 내 흡수율을 증진시키기 위하여 지방산, 지방산의 에스테르 유도체, 또는 지방산의 알코올 유도체 등을 추가적으로 함유할 수 있다. 또한, 증상에 따라 적절한 난용성 약물을 추가적으로 포함할 수 있다.

<77> 상기 난용성 약물로서 다른 항암제, P-당단백질 억제제, 또는 간대사제해제 등이 사용될 수 있다.

<78> 이 때, 상기 다른 항암제로서 독소루비신, 시스플라틴, 카보플라틴, 카무스틴(BCNU), 다카바진, 에도포사이드, 플루오로우라실 (5-FU) 또는 파클리탁셀 유도체 등이 사용 될 수 있다. 상기 파클리탁셀 유도체로서 도시탁셀, 브로모탁셀, 탁소티어 등이 사용 될 수 있다.

<79> 상기 P-당단백질 억제제로서 신코닌(cinchonin), 칼슘 채널 저해제, 칼모듈린 길항제, 빈카 알칼로이드(Vinca alkaloid), 항부정맥제, 스테로이드, 항고혈압제, 구충제, 또는 면역억제제 등이 사용 될 수 있다. 상기 칼슘 채널 저해제로서 베라파밀(verapamil), 니페디핀(nifedipine), 니카디핀(nicardipine), 또는 니트렌디핀(nitrendipine)과 같은 디히드로피리딘(dihydropyridines) 등이 사용 될 수 있다. 상기 칼모듈린 길항제로서 트리플루오로페라진(trifluoroperazine) 등이 사용 될 수 있다. 상기 항 고혈압제로서 레세핀(reserpine) 등이 사용 될 수 있다. 상기 빈카 알칼로이드로서 빈크리스틴(vincristine), 또는 빈블라스틴(vinblastine) 등이 사용 될 수 있다. 상

기 스테로이드로서 프로게스테론 등이 사용 될 수 있다. 상기 항부정맥제로서 아미오다론(amiodarone), 또는 쿠니딘(quinidine) 등이 사용 될 수 있다. 상기 구충제로서 쿠나크린(quinacrine), 또는 쿠닌(quinine) 등이 사용 될 수 있다. 상기 면역억제제로서 사이클로스포린류, 스타우로스포린(staurosporine), 또는 태크로리미스(tacrolimus) 등이 사용 될 수 있다.

<80> 상기 간 대사 저해제로서 사이클로스포린 A, 독소루비신(doxorubicin), 에토포사이드(etoposide, VP-16) 또는 시스플라틴(cisplatin)과 같은 항암제, 베라파밀(verapamil), 또는 타모시펜(tamoxifen) 등이 사용 될 수 있다.

<81> 특히 본 발명에 의한 유화제를 포함한 파클리탁셀의 조성물을 약물 전달 체계에 사용할 경우에는 경구투여, 구강내 투여, 점막투여, 비강내투여, 복강내 투여, 피하주사, 근육주사, 경피 투여 또는 종양내 투여와 같은 투여방법 등이 가능하며, 경구 투여가 가장 바람직하다.

<82> 상기 유화제를 함유하는 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조방법은

<83> 1) 조성물 총 중량에 대하여 4 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 모노글리세라이드 계 화합물, 0.01 내지 90 중량%의 한 가지이상의 기름을 0.01 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 유화제와 함께 50 °C 이하로 가온하여 완전히 용해시켜 점성의 액체를 만드는 단계 (단계 1); 및

<84> 2) 상기 단계 1의 액체를 0.01 내지 20 중량%의 파클리탁셀과 혼합하여 균일한 상을 제조하는 단계 (단계 2)를 포함하여 이루어진다.

<85> 상기 조성물의 제조 방법을 한 예로서 설명하면, 모노글리세라이드계 화합물을 기름 및 유화제와 함께 50 °C 이하로 가온하여 완전히 용해시켜서 얻어진 점성의 액체에 파클리탁셀을 첨가한 후, 상온 또는 50 °C 이하로 가온하여 저어주거나 3 ~ 5 분간 소니케이션하여 균일한 상의 조성물을 제조한다.

<86> 상기 유화제를 함유하는 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 또 다른 제조방법은

<87> 1) 조성물의 총 중량에 대하여 0.01 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 기름을 0.01 내지 20 중량%의 파클리탁셀과 혼합한 후, 배쓰형 소니케이터에서 소니케이션하여 완전히 용해시켜서 파클리탁셀 용액을 만드는 단계 (단계 1); 및

2) 상기 단계 1의 파클리탁셀 용액을 0.01 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 유화제 및 4 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 모노글리세라이드계 화합물과 혼합하여 균일한 상을 제조하는 단계 (단계 2)를 포함하여 이루어진다.

<88> 상기 명시한 제조방법들은 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물을 제조하기 위한 일례에 불과하며, 이외에도 여러 가지 제조방법을 사용할 수 있다.

<89> 본 발명의 파클리탁셀의 가용화용 조성물은 상온에서 보관하면 그 조성에 따라 액상 또는 겔 형태 (gel type)의 반고상 (semi-solid form)으로 존재하며, 치료적 유효 성분인 파클리탁셀을 비롯하여 각 성분이 변질되지 아니하고 조성의 물리적 성질이 장기간 유지되는 매우 안정한 제형이다. 또한, 본 발명의 파클리탁셀의 가용화용 조성물을 과량의 물 또는 수용액에 분산시키면, 400 nm 이상의 입자로 분산되며, 시간이 경과하여도 분산액에서 침전이 형성되지 않으므로 파클리탁셀을 효율적으로 가용화시키는 조성이다

. 또한, 본 발명의 조성물은 400 nm 에서의 흡광도가 1 내지 4에 이르는 입자의 크기가 비교적 큰 조성물이다.

<91> 즉, 본 발명의 조성물은 나노 사이즈의 미세한 입자로 분산되는 맑은 기름 조성물 형태가 아닌 비교적 큰(수 백 nm 내지 수  $\mu$ m) 입자로 분산되면서도, 장기간 침전을 형성하지 아니하며, 체내에 투여 되었을 때, 장내 점막흡착성이 우수하고 넓은 범위로 장막에 흡착되어 장 점막에서의 흡수성이 뛰어나고, 모노글리세라이드를 포함하고 있어서, 대사 과정 없이 파클리탁셀이 즉시 세포 내로 흡수될 수 있는 조성물이다.

<92> 이하 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.

<93> 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

<94> 본 발명에서 사용된 완충용액은 다음과 같다.

<95> Plate Well Coating Buffer: 50 mM Sodium Phosphate, 0.15 M NaCl and 0.02% sodium azide, pH 7.0 (PBS)

<96> Plate Well Blocking Buffer: PBS containing 1% (w/v) Bovine Serum Albumin (BSA)

<97> Sample Diluting Buffer: PBS containing 0.25% (w/v) BSA, 0.05% (v/v) Tween-20, 20% (v/v) Methanol and 0.02% sodium azide (PBSTM).

<98> Antibody Diluting Buffer: PBS containing 0.25% (w/v) BSA, 0.05% (v/v) Tween-20 and 0.02% sodium azide (PBST).

<99> Wash Buffer: 50 mM Tris HCl, pH 7.0, 0.15 M NaCl, containing 0.05% (v/v) Tween 20 and 0.02% sodium azide (TBST).

<100> Enzyme Substrate Buffer: 25 mM Tris, pH 9.5, 0.15 M NaCl containing 5 mM MgCl<sub>2</sub> and 0.02% (w/v) sodium azide.

<101> <실시 예 1>

<102> 조성비의 변화에 따른 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조 1

<103> (1) 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조

<104> 모노올레인 1 g과 트리카프릴린 0.5 g을 넣은 후 약 40 °C로 가열하여 완전히 섞어서 점성의 유성용액 (oily solution)을 제조하였다. 유성용액에 15 mg의 파클리탁셀을 첨가한 후 배쓰형 소니케이터에서 초음파처리 하여 완전히 용해시켰다.

<105> (2) 가용화용 조성물의 특성 분석

<106> 종류수 3  $\text{mL}$ 에 상기 액상 제형 2  $\mu\text{L}$ 를 가한 후 잘 흔들어 혼합하여 분산액을 제조한 후 입자 크기 및 분산도 (polydispersity)를 측정하였다. 본 발명에서 입자의 크기 측정은 말버른 제타사이저 (Malvern Zetasizer)를 이용한 광자 분광법 (Photon Correlation spectroscopy; QELS법)으로 측정하였으며 동일한 시료를 3 회 측정하여 평균값을 구하였고, 분산도 (polydispersity)는 입자 크기의 일반적인 분포도로 알려진 정상 로그 분포도의 로그-스케일에서의 분산 정도로 나타내었다 (Orr, *Encyclopedia of emulsion technology*, 1, 369-404, 1985). 하기의 모든 실시예에서도 입자 크기 및 분산도 측정에 상기 방법을 사용하였다.

<107> 상기 조성물은 상온에서는 반고형, 냉장 보관시 고형으로 존재하나 40 °C 이상에서는 액상으로 존재한다. 또한 파클리탁셀의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았으며 조성물은 상분리 없이 안정하였다. 상기 조성물을 물에 넣고 10 초 동안 vortex하면 평

균 입자 크기 1230 nm 내외의 불안정한 분산계를 이루었다. 또한 400 nm에서 흡광도가 분산 후 24시간이 경과하여도 paclitaxel의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았다.

<108> <실시예 2>

<109> 조성비의 변화에 따른 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조 2

<110> 모노올레인 1 g과 트리카프릴린 0.5 g을 넣은 후 약 40 °C로 가열하여 완전히 섞어서 점성의 유성용액 (oily solution)을 제조하였다. 유성용액에 30 mg의 파클리탁셀을 첨가한 후 배쓰형 소니케이터에서 초음파처리 하여 완전히 용해시켰다. 상기 조성물은 상온에서는 반고형, 냉장 보관시 고형으로 존재하나 40 °C 이상에서는 액상으로 존재한다. 또한 파클리탁셀의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았으며 조성물은 상분리 없이 안정하였다. 상기 조성물을 물에 넣고 10 초 동안 블랙스하면 평균 입자 크기 2080 nm 내외의 불안정한 분산계를 이루었다. 분산 후 24시간이 경과하여도 paclitaxel의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았다.

<111> 상기 실시예 1와 실시예 2의 결과를 종합하여 각조성물의 함량 및 물에 분산하였을 때의 입자크기 및 분산도를 하기 표 1에 나타내었다.

<112> 【표 1】

함량 (무게 %)			입자크기 (nm)	실시예
모노올레인	트리카프릴린	파클리탁셀		
66	33	1	1230 (0.200)	1
65	33	2	2080 (1.000)	2

<113> <실시예 3>

<114> 조성비의 변화에 따른 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조 1

<115> 모노올레인 1 g, 트리카프릴린 0.5 g과 tween 80 0.3 g을 넣은 후 약 40 ℃로 가열하여 완전히 섞어서 점성의 유성용액 (oily solution)을 제조하였다. 유성용액에 18 mg의 파클리탁셀을 첨가한 후 배쓰형 소니케이터에서 초음파처리 하여 완전히 용해시켰다. 상기 조성물은 물에 잘 분산되었고 평균 입자 크기는 600 nm 내외였다. 분산 후 24시간이 경과하여도 pacltaxel의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았으며 분산계는 상분리 없이 안정하였다. 상기 조성물은 상온에서는 반고형, 냉장 보관시 고형으로 존재하나 40 ℃ 이상에서는 액상으로 존재한다.

<116> <실시예 4>

<117> 조성비의 변화에 따른 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조 2

<118> 모노올레인 1 g, 트리카프릴린 1 g과 tween 80 0.4 g의 유성용액에 10 mg의 파클리탁셀을 첨가한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 조성물 및 분산액을 제조하고 입자 크기를 측정한 결과 조성물은 물에 잘 분산되었으며 입자 크기는 530 nm였다. 분산 후 24시간이 경과하여도 pacltaxel의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았으며 분산계는 상분리 없이 안정하였다. 상기 조성물은 상온에서는 반고상, 냉장 보관시 고상으로 존재하나 40 ℃ 이상에서는 액상으로 존재한다.

<119> 상기 실시예 3와 실시예 4의 결과를 종합하여 각조성물의 함량 및 물에 분산하였을 때의 입자크기 및 분산도를 하기 표 2에 나타내었다.

<120> 【표 2】

함량 (무게 %)				입자크기 (nm)	실시예
모노올레인	트리카프릴린	트원 80	파클리탁셀		
55	28	16	1	600 (0.200)	3
41.5	41.5	16.6	0.4	530 (1.000)	4

<121> <비교예 1>

<122> 오일이 첨가되지 않은 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조 1

<123> 모노올레인 1 g과 tween 80 0.2 g의 유성용액에 12 mg의 파클리탁셀을 첨가한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 조성물 및 분산액을 제조하고 입자 크기를 측정한 결과 조성물은 물에 잘 분산되었으며 입자 크기는 700 nm 였다. 그러나 분산후 약 1시간이 경과한 후 편광현미경상에서 파클리탁셀의 침전이 관찰되었으며, 분산액이 불안정해짐을 관찰하였다.

<124> <비교예 2>

<125> 오일이 첨가되지 않은 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조 2

<126> 모노올레인 1 g 및 플루로닉 F-68(pluronic F-68) 0.24 g의 유성용액에 12.4 mg의 파클리탁셀을 첨가한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 조성물 및 분산액을 제조하고 입자 크기를 측정한 결과 조성물은 물에 잘 분산되었으며 입자 크기는 640 nm 였다. 그러나 분산후 약 1시간이 경과한 후 편광현미경상에서 파클리탁셀의 침전이 관찰되었으며, 분산액이 불안정해짐을 관찰하였다.

<127> <비교예 3>

<128> 모노올레인이 첨가되지 않은 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조 1

<129> 트리카프릴린 1 g, tween 80 0.2 g의 유성용액에 12 mg의 파클리탁셀을 첨가한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 조성물 및 분산액을 제조하고 입자 크기를

측정한 결과 조성물은 물에 잘 분산되었으며 입자 크기는 560 nm였다. 분산액은 상변화 없이 안정하였으며 파클리탁셀의 침전역시 관찰되지 않았다.

<130> <실시 예 5>

<131> 오일의 변화에 따른 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조 1

<132> 모노올레인 1 g, 트리부티린 0.5 g과 tween 80 0.3 g의 유성용액에 18 mg의 파클리탁셀을 첨가한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 조성물 및 분산액을 제조하고 입자 크기를 측정한 결과 조성물은 물에 잘 분산되었으며 입자 크기는 950 nm였다. 분산 후 24시간이 경과하여도 pacltaxel의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았으며 분산계는 상분리 없이 안정하였다. 상기 조성물은 상온에서는 반고상, 냉장 보관시 고상으로 존재하나 40 °C 이상에서는 액상으로 존재한다.

<133> <실시 예 6>

<134> 오일의 변화에 따른 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조 2

<135> 모노올레인 1 g, 리파이오돌 (Lipiodol Ultra-fluid, Laboratoire Guerbet, France, 요오드 함량: 38 중량%) 0.5 g과 tween 80 0.3 g의 유성용액에 18 mg의 파클리탁셀을 첨가한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 조성물 및 분산액을 제조하고 입자 크기를 측정한 결과 조성물은 물에 잘 분산되었으며 입자 크기는 680 nm였다. 분산 후 24시간이 경과하여도 pacltaxel의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았으며 분산계는 상분리 없이 안정하였다. 상기 조성물은 상온에서는 반고상, 냉장 보관시 고상으로 존재하나 40 °C 이상에서는 액상으로 존재한다.

<136> <실시 예 7>

<137> 오일의 변화에 따른 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조 3

<138> 모노올레인 1 g, 스쿠알란 (squalane, Sigma Chemical Company) 0.5 g과 tween 80 0.3 g의 유성용액에 18 mg의 파클리탁셀을 첨가한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 조성물 및 분산액을 제조하고 입자 크기를 측정한 결과 조성물은 물에 잘 분산되었으며 입자 크기는 598 nm였다. 분산 후 24시간이 경과하여도 파클리탁셀의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았으며 분산계는 상분리 없이 안정하였다. 상기 조성물은 상온에서는 반고상, 냉장 보관시 고상으로 존재하나 40 °C 이상에서는 액상으로 존재한다.

<139> <실시예 8>

<140> 오일의 변화에 따른 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조 4

<141> 모노올레인 1 g, 홍화씨 기름(safflower seed oil, Sigma Chemical Company) 0.5 g과 tween 80 0.3 g의 유성용액에 18 mg의 파클리탁셀을 첨가한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 조성물 및 분산액을 제조하고 입자 크기를 측정한 결과 조성물은 물에 잘 분산되었으며 입자 크기는 1040 nm였다. 분산 후 24시간이 경과하여도 파클리탁셀의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았으며 분산계는 상분리 없이 안정하였다. 상기 조성물은 상온에서는 반고상, 냉장 보관시 고상으로 존재하나 40 °C 이상에서는 액상으로 존재한다.

<142> 상기 실시예 5 내지 실시예 8의 결과를 종합하여 각 조성물의 함량 및 물에 분산시켰을 때의 입자크기 및 분산도를 하기 표 3에 나타내었다.

&lt;143&gt; 【표 3】

기름의 종류*	입자크기 (nm)	실시예
트리부티린	950 (0.661)	5
리피오öl	680 (1.000)	6
스쿠알란	597 (0.550)	7
홍화씨기름	1040 (0.497)	8
*모노올레인:기름:트윈 80:파클리탁셀= 55:28:16:1 (부계비)		

&lt;144&gt; &lt;실시예 9&gt;

&lt;145&gt; 파클리탁셀의 함량 변화에 따른 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의

## 제조 1

<146> 모노올레인 1 g, 트리카프릴린 0.5 g과 tween 80 0.3 g의 유성용액에 38 mg의 파클리탁셀을 첨가한 것을 제외하고는 실시예\_1과 동일한 방법으로 조성물 및 분산액을 제조하고 입자 크기를 측정하였다 그 결과 조성물은 물에 잘 분산되었으며 입자 크기는 1450 nm 였다. 분산 후 24시간이 경과하여도 파클리탁셀의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았으며 분산계는 상분리 없이 안정하였다. 상기 조성물은 상온에서는 반고상, 냉장 보관시 고상으로 존재하나 40 °C 이상에서는 액상으로 존재한다.

&lt;147&gt; &lt;실시예 10&gt;

<148> 파클리탁셀의 함량 변화에 따른 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의  
제조 2

<149> 모노올레인 1 g, 트리카프릴린 0.5 g과 tween 80 0.3 g의 유성용액에 54 mg의 파클리탁셀을 첨가한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 조성물 및 분산액을 제조하고 입자 크기를 측정하였다 그 결과 조성물은 물에 잘 분산되었으며 입자 크기는 1630 nm 였다. 분산 후 24시간이 경과하여도 파클리탁셀의 침전이 편광현미경상에서 관찰되

지 않았으며 분산계는 상분리 없이 안정하였다. 또한 조성물은 상기 실시예 1 내지 실시예 7에서 제조된 조성물과는 달리 상온에서는 액상, 냉장보관시 고상으로 존재하였다.

<150> 상기 실시예 9와 실시예 10의 결과를 종합하여 각조성물의 함량 및 물에 분산시켰을 때의 입자크기 및 분산도를 하기 표 1에 나타내었다.

<151> **【표 4】**

함량 (무게 %)				입자크기 (nm)	실시예
모노올레인	트리카프릴린	트윈 80	파클리탁셀		
55	27	16	2	1450 (1.000)	9
54	27	16	3	1630 (1.000)	10

<152> <실시예 11>

<153> 유화제의 변화에 따른 유화제를 첨가한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조 1

<154> 트윈 80 대신에 플루로닉 F-68 (BASF사)를 사용한 것을 제외하고는 실시예 3과 동일한 방법으로 조성물 및 분산액을 제조하고 입자 크기를 측정하였다 그 결과 조성물은 물에 잘 분산되었으며 입자 크기는 420 nm (분산도 0.284) 였다. 분산 후 24시간이 경과하여도 파클리탁셀의 침전이 편광현미경상에서 관찰되지 않았으며 분산계는 상분리 없이 안정하였다. 상기 조성물은 상온에서는 반고상, 냉장 보관시 고상으로 존재하나 40 °C 이상에서는 액상으로 존재한다.

<155> <실시예 12>

<156> 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 *In vivo* 경구투여 실험 1

<157> 상기 실시예 1에서 제조한 파클리탁셀의 가용화용 조성물으로 동물실험을 수행하였다.

<158> ① 파클리탁셀 조성물의 경구투여실험

<159> 파클리탁셀 1 mg을 포함한 조성물 100  $\mu$ l를 Balb/C mouse (6~7주령, female)를 4 시간 동안 절식시킨 후 위 존데(gastric sonde)로 경구투여 하였다. 비교군으로서 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol® 167  $\mu$ l를 0.5 ml의 물에 분산시켜 (파클리탁셀기준 1 mg에 해당) 같은 방법으로 경구투여 하였으며 또 다른 비교군으로 비교예 3에서 제조된 모노올레인이 첨가되지 않은 파클리탁셀을 1 mg을 함유한 트리카프릴린/Tween 80 지방유제 100  $\mu$ l을 경구투여 하였다. 약물 투여 후 1, 2, 3, 4, 시간째 눈에서 혈액을 채취하여 파클리탁셀 농도를 측정하였다.

<160> 비교군으로는 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol®을 Balb/C 마우스 (6~7주령, male)에 정맥주사한 후 4 시간 까지의 혈중 파클리탁셀 농도를 측정하였다. Taxol® 0.1 ml를 5.9 ml의 물에 분산시킨 후 0.1 ml를 (파클리탁셀기준 10  $\mu$ g에 해당) 4 시간 절식시킨 Balb/C 마우스의 꼬리 정맥을 통하여 환약 투여(bolus injection) 하였다. 약물 투여 후 0.5, 1, 2, 4, 시간째 눈에서 혈액을 채취하여 파클리탁셀 농도를 측정하였다.

<161> ② 혈중 파클리탁셀 및 그 체내 대사산물의 정량 (ELISA 방법)

<162> 혈중 파클리탁셀 및 그 대산산물의 농도는 Hawaii Biotech 사의 Anti-taxane monoclonal kit (모델명: 8A10)를 사용하여 정량하였다. 파클리탁셀은 CYP2C8과 CYP3A4에 의해 각각 6- $\alpha$ -히드록시파클리탁셀과 3' - $p$ -히드록시파클리탁셀로 대사되는 것으로 알려져 있다. 일차 대사산물을 비롯하여 다양한 파클리탁셀의 대사산물이 혈중에 존재하며, Anti-taxane monoclonal kit는 taxane ring을 가지고 있는 모든 대사산물 및 파클리탁셀을 인식하므로 파클리탁셀의 총 흡수량중 혈중농도를 정량할 수 있다 (Grothaus, G.P., Bignami, G.S., O'Malley, S., Harada, K.E., Byrnes, J.B., Waller,

D.F., Raybould, T.J.G., Mcguire, M.T. and Alvaro, B., Taxane-specific monoclonal antibodies: measurement of taxol, baccatin III, and 'total taxanes' in *Taxus brevifolia* extracts by enzyme immunoassay. *J. Nat. Prod.* 58, pp. 1003-1014, 1995).

<163> 먼저 측정하고자 하는 혈액 시료를 4번 정도 연속 희석하여 준비하였다. 택솔-단백질 함유 항원(Taxol-protein coating antigen, blue label)을 포스페이트 버퍼 살린 (PBS)으로 100배 희석하여 96-웰 플레이트의 각 웰 당 100  $\mu$ l 씩 채워준 후, 약 1 시간 인큐베이션하였다. 플레이트를 TBST로 4번 세척한 후 1% 소 혈청 알부민을 함유한 PBS로 1 시간 동안 블로킹하였다. 다시 TBST로 4번 세척한 후, 연속 희석시킨 시료를 각 웰 당 50  $\mu$ l씩 넣었다. 표준물질로는 표준 HBC 택솔 (HBC Taxol Standard, RED label)을 PBST로 연속 희석하여 각 웰 당 50  $\mu$ l씩 넣었다. PBST 4.5 ml와 anti\_taxan rabbit Ab(green label) 50  $\mu$ l를 섞어서 만든 이하 항체용액을 각 웰 당 50  $\mu$ l씩 넣었다. 웰을 TBST로 4번 세척한 후 이차 항체를 PBST에 1000배 희석하여 웰 당 100  $\mu$ l씩 넣고 1 시간 인큐베이션하였다. 다시 TBST로 4번 세척한 후 serial 1 mg/ml의 pNPP 용액각 웰 당 200  $\mu$ l씩 첨가하였다. 1시간 상온에서 인큐베이션 한 후, ELISA 판독기를 이용하여 414 nm에서 흡광도를 측정하여 690 nm에서의 값과 비교하여 정량하였다.

<164> ③ 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 경구투여 실험결과

<165> 경구투여후 시간에 따른 혈중 파클리탁셀의 농도변화를 도 1에 나타냈다. 환약 투여(Bolus injection) 한 정맥주사의 생체이용율을 100 %로 하였을 때 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 경구투여 결과 상대적인 생체이용율은 다음 식으로 구하였다.

<166> 생체이용율 (Bioavailability, %) =	$\frac{AUC_{oral}}{AUC_{iv}} \times \frac{DOSE_{iv}}{DOSE_{oral}} \times 100$
------------------------------------	---

<167> 위 식에서  $AUC_{oral}$  및  $AUC_{iv}$ 은 각각 경구투여 및 정맥주사 후의 곡선 아래 부분이며,  $DOSE_{iv}$  및  $DOSE_{oral}$ 은 경구투여 및 정맥주사시의 파클리탁셀의 투여량이다. 파클리탁셀의 가용화용 조성물을 경구투여할 경우 정맥주사와 비교하여 생체이용율은 약 19.5 %로 나타났다.

<168> <실시예 13>

<169> 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 *In vivo* 경구투여 실험 2

<170> 상기 실시예 12과 같은 방법으로 상기 실시예 2에서 제조한 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물 50  $\mu$ l (파클리탁셀 1 mg/mouse)를 Balb/c mouse에 경구투여하였다. 비교군으로는 정맥주사한 군 (파클리탁셀 10  $\mu$ g/mouse)을 사용하였다. 경구투여 후 시간에 따른 혈중 파클리탁셀 및 대사산물의 총 농도변화를 ELISA 법으로 정량하여 실시예 12의 결과와 비교하여 도 2에서 보여준다. 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물을 경구투여할 경우 정맥주사와 비교하여 생체이용율은 약 9.5  $\pm$  5 %로 나타났다.

<171> <실시예 14>

<172> 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 *In vivo* 경구투여 실험- 파클리탁셀의 함량에 따른 영향

<173> 상기 실시예 12과 같은 방법으로 상기 실시예 3, 9, 10에서 제조한 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물 (파클리탁셀 1 mg/mouse)을 Balb/c 마우스에 경구투여하였다. 비교군으로는 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol<sup>®</sup>을 물에 분산시켜 경구투여한 군 (파클리탁셀 1 mg/마우스)과 실시예 11에서 사용한 정맥주사한 군 (파클리탁셀 10

$\mu\text{g}/\text{마우스}$ ) 두가지 군을 사용하였다. 경구투여 후 시간에 따른 혈중 파클리탁셀 및 대사산물의 총 농도변화를 ELISA 법으로 정량하여 도 2에서 보여준다. 또한 실시예 12에서 정맥주사와 군네서의 생체이용율을 100 %로 하고 계산한 경구투여시 생체이용율을 표 5에 정리하였다. 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물을 경구투여할 경우 정맥주사와 비교하여 생체이용율은 약 10 ~ 30 %로 나타났다. 반면 Taxol<sup>®</sup>을 경구투여할 경우 생체이용율은 1.7 ± 3 %로 나타났다.

<174> 【표 5】

경구투여 조성물 함량 (무게 %)				생체이용율 (%)	실시예
모노올레인	트리카프릴린	트원 80	파클리탁셀		
55	28	16	1	29.5	3
55	27	16	2	12.1	9
54	27	16	3	28	16
	55			27	16

<175> <실시예 15>

<176> 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 *In vivo* 경구투여 실험- 유화제의 변화에 따른 영향

<177> 상기 실시예 12과 같은 방법으로 상기 실시예 11에서 제조한 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물 (파클리탁셀 1 mg/마우스)을 Balb/c 마우스에 경구투여하였다. 비교군으로는 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol<sup>®</sup>을 물에 분산시켜 정맥주사한 군 (파클리탁셀 10  $\mu\text{g}/\text{마우스}$ )을 사용하였다. 경구투여 후 시간에 따른 혈중 파클리탁셀의 농도변화를 ELISA 법으로 정량하여 도 3에서 보여준다. 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물을 경구투여할 경우 정맥주사와 비교하여 생체이용율은 약 13.4 ± 4 %로 나타났다.

<178> <실시예 16>

<179> 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 *In vivo* 경구투여 실험- 베라파밀의 병용투여

<180> 상기 실시예 12과 같은 방법으로 상기 실시예 4에서 제조한 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물 (파클리탁셀 1 mg/마우스)을 Balb/c 마우스에 경구투여하였다. 또한 파클리탁셀의 흡수를 높이는 물질로 알려진 베라파밀 (1 mg)을 파클리탁셀의 가용화용 조성물 (파클리탁셀 1 mg/마우스)과 함께 병용투여하여 생체이용율의 변화도 관찰하였다. 경구투여 후 시간에 따른 혈중 파클리탁셀의 농도변화를 도 4에서 보여준다. 유화제를 포함하지 않은 파클리탁셀의 가용화용 조성을 경구투여할 경우 실시예 12에서 보여준 Taxol®의 정맥주사와 비교하여 생체이용율은 약 2.7 %로 나타났다. 그러나 베라파밀과 병용투여할 경우 생체이용율이 17.6 %로 증가하였다.

<181> <실시예 14>

<182> 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 *In vivo* 경구투여 실험- HPLC법으로 파클리탁셀 정량

<183> 상기 실시예 12과 같은 방법으로 상기 실시예 3에서 제조한 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물 (파클리탁셀 1 mg/마우스)을 Balb/c 마우스에 경구투여한 후 HPLC 방법으로 파클리탁셀을 정량하였다. 상기의 ELISA 방법으로 정량하면 파클리탁셀의 체내대사산물이 모두 검출되지만, HPLC 방법으로는 분해되지 않은 파클리탁셀 만을 정량하였다.

<184> ① 혈중 파클리탁셀의 정량 (HPLC 방법)

<185> 체취된 혈액시료를 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 플라즈마를 얻은 후 정량시 까지 -20 °C에서 보관하였다. 플라즈마 200  $\mu$ l에 internal standard로서 부틸-p-히드록 시벤조산 (butyl-p-hydroxybenzoic acid)을 100  $\mu$ g/ml의 농도로 아세토니트릴에 녹여 10  $\mu$ l 취하여 사용하였다. 3차 부틸메틸에테르(tert-butylmethylether) 1 ml를 첨가하고 30 초간 불택싱하여 시료를 추출하였다. 유기층을 분리하기 위하여 3000 rpm에서 5 분간 원심분리한 후, 0.8 ml의 유기??을 취하여 질소기류하에서 건조시켰다. 잔사를 80  $\mu$ l의 60 % 아세토니트릴에 녹이고 그 중 30  $\mu$ l을 HPLC에 주입하여 파클리탁셀을 분석하였다. HPLC 시스템은 Sheshedo Nanospace Semimicro column HPLC를 사용하였으며, SI-1/2001 펌프, SI-1/2002 UV-VIS 탐지기, SI-1/2004 컬럼 항온조, SI-1/2003 오토샘플러, SI-1/2009 탈기장치. SI-1/2011, 2012 고압절환 육방 밸브 및 Shisheido-MicroChrom software로 구성되었다. 전처리 컬럼으로는 CAPCELPAK MF Ph-2 카트리지 (4.6 x 20 mm), 중간 농축 컬럼으로는 CAPCELPAK C18 UG120 (2.0 x 250 mm) 컬럼을 사용하였다. 이동상은 50 %의 인산완충용액 (0.1 %, pH = 6.86) (펌프 A)와 50 % 아세토니트릴 (pump B)을 사용하였고 컬럼의 온도는 30 °C로 유지하였다. 혈장내 파클리탁셀은 컬럼 스위칭 방법을 이용하여 분석하였다. 이동상은 전처리 컬럼의 경우 0.1 % 인산/아세토니트릴 용액 (84: 16 부피비)을 0.5 ml/min의 속도로 흘려주었고, 분석 컬럼(analytical column)은 인산/아세토니트릴 용액을 0.1 ml/min으로 흘려주었다.

<186> 먼저 스위칭 밸브를 A 위치로 하여 전처리 컬럼 용출액을 버린후, 분석 컬럼의 용출액은 UV 탐지기를 통하여 하였다. 전처리 컬럼에서 internal standard는 4.1 분에서 7.2 분에 거쳐, 그리고 파클리탁셀은 6.4 분에서 9.3 분에 거쳐 용출되므로 4.0 분에 스위칭 밸브를 B 위치로 전환하여 전처리 컬럼 용출액이 농축 컬럼으로 흐르도록 하여

시료를 농축하였다. 10분 경과시점에서 스위칭 밸브를 다시 A 위치로 변환하여, 흐름을 농축 컬럼에서 분석 컬럼으로 바꾸고 227 nm에서 피크를 관찰하였다. 각 크로마토그램은 Syscon software (Shisheido)를 이용하여 피크를 정량하였다.

<187> ② 경구투여 실험

<188> 상기 실시예 12과 같은 방법으로 상기 실시예 3에서 제조한 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물 (파클리탁셀 1 mg/마우스)을 Balb/c 마우스에 경구투여하였다. 비교군으로는 Bristol-Myers Squibb 사의 Taxol®을 Balb/C 마우스 (6~7주령, 수컷)에 정맥주사한 후 4 시간 까지의 혈중 파클리탁셀 농도를 측정하였다. Taxol® 0.4 ml를 5.9 ml의 물에 분산시킨 후 0.1 ml를 (파클리탁셀기준 40 µg에 해당) 4 시간 절식 시킨 Balb/C 마우스의 꼬리 정맥을 통하여 bolus injection 하였다. 약물투여후 4 시간 까지 눈에서 혈액을 채취하여 파클리탁셀 농도를 측정하였다. 경구투여 후 시간에 따른 혈중 파클리탁셀 및 대사산물의 총 농도변화를 HPLC 법으로 정량하여 도 5에서 보여준다. 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물을 경구투여할 경우 정맥주사와 비교하여 생체이용율은 약 30.3 %로 나타났다.

<189> <실시예 15>

<190> 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 *In vivo* 복강내 투여실험

<191> 상기 실시예 3에서 제조한 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물 50 µl (파클리탁셀 1 mg/마우스)를 Balb/c 마우스에 복강내 투여하였다. 복강내 투여 후 시간

에 따른 혈중 파클리탁셀 및 대사산물의 총 농도변화를 ELISA 법으로 정량하여 도 6에서 보여준다.

<192> <실시 예 16>

<193> 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 *In vivo* 근육내 투여실험

<194> 상기 실시예 3에서 제조한 유화제를 포함한 파클리탁셀의 가용화용 조성물 50  $\mu$ l (파클리탁셀 1 mg/mouse)를 Balb/c mouse에 근육내 투여하였다. 근육내 투여 후 시간에 따른 혈중 파클리탁셀 및 대사산물의 총 농도변화를 ELISA 법으로 정량하여 도 6에서 보여준다.

#### 【발명의 효과】

<195> 이상에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 의한 파클리탁셀의 가용화용 조성물은 파클리탁셀을 안정하게 가용화 시킬 수 있을 뿐만 아니라 물에 분산되어도 파클리탁셀의 침전을 형성하지 않는다. 또한 수용액상에서는 미세 입자를 형성하지 않고 300 nm ~ 5  $\mu$ m의 크기를 가진 입자를 형성하지만 불안정한 계를 이룬다. 그러나 경구투여, 복강내, 근육내 투여시 혈중 파클리탁셀의 농도가 4시간이상 높게 지속된다.

**【특허청구범위】****【청구항 1】**

조성물의 총 중량을 기준으로, 한 가지 이상의 모노글리세라이드 (monoglyceride) 계 화합물 4~90 중량%, 한 가지 이상의 기름 0.01~90 중량% 및 파클리탁셀 (paclitaxel) 0.01 ~ 20 중량%를 포함하고 장내 점막흡착성이 우수한 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 2】**

제 1 항에 있어서, 상기 모노글리세라이드계 화합물이 탄소수 10 내지 22 개의 포화 또는 불포화된 모노글리세라이드계 화합물인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 3】**

제 2 항에 있어서, 상기 모노글리세라이드계 화합물이 모노올레인, 모노팔미톨레인, 모노미리스톨레인, 모노일레이딘, 모노이루이신, 및 식물성 또는 동물성 기름의 트리글리세라이드로부터 반합성된 모노글리세라이드의 혼합물로 구성된 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 4】**

제 1 항에 있어서, 상기 기름이 트리글리세라이드, 요오드화 기름, 식물성 및 동물성 기름으로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 5】**

제 4 항에 있어서, 상기 트리글리세라이드가 탄소수 2 내지 20개의 포화 또는 불포화 트리글리세라이드인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 6】**

제 5 항에 있어서, 상기 트리글리세라이드가 트리아세틴 (triacetin) 트리부티린 (tributyrin), 트리카프로인 (tricaproin), 트리카프릴린 (tricaprylin), 트리카프린 (tricaprin) 및 트리올레인 (triolein)으로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 7】**

제 4 항에 있어서, 상기 요오드화 오일이 리파이오돌(lipiodol), 요오드화 양귀비씨 기름 (iodized poppy seed oil), 에티오돌 (ethiodol) 및 요오드화 대두유 (iodized soybean oil)로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 8】**

제 4 항에 있어서, 상기 식물성 기름이 콩기름, 면실유, 올리브유, 양귀비씨 기름, 흥화씨기름 및 참기름으로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 9】**

제 4 항에 있어서, 상기 동물성 기름이 스쿠알란 또는 스쿠알렌인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 10】**

제 1 항에 있어서, 조성물의 총 중량에 대하여 0.01 ~ 5 중량%의 첨가제를 추가적으로 포함하는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 11】**

제 10 항에 있어서, 상기 첨가제가 크레모포어, 토코페롤, 토코페롤 아세테이트, 지방산, 지방산의 에스테르류, 지방산의 알코올류, 난용성 약물, 알코올 및 폴리올로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 12】**

제 11 항에 있어서, 상기 난용성 약물이 항암제, P-당단백질 억제제 및 간대사제제로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 13】**

제 12 항에 있어서, 상기 항암제가 독소루비신, 시스플라틴, 카보플라틴, 카무스틴(BCNU), 다카바진, 에도포사이드, 플루오로우라실 (5-FU) 및 파클리탁셀 유도체로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 14】**

제 12 항에 있어서, 상기 파클리탁셀 유도체가 도시탁셀, 브로모탁셀 및 탁소티어로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 15】**

제 12 항에 있어서, P-당단백질 억제제가 상기 P-당단백질 억제제로서 신코닌(cinchonin), 칼슘 채널 저해제, 칼모듈린 길항제, 빈카 알칼로이드(Vinca alcaloid), 항부정맥제, 스테로이드, 항고혈압제, 구충제, 및 면역억제제로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 16】**

제 15 항에 있어서, 상기 칼슘 채널 저해제가 베라파밀(verapamil), 니페디핀(nifedipine), 니카디핀(nicardipine), 및 니트렌디핀(nitrendipine)으로 구성되는 군 중에서 선택되는 디하드로피리딘(dihydropyridines)인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 17】**

제 15 항에 있어서, 상기 칼모듈린 길항제가 트리플루오로페라진(trifluoroperazine)인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 18】**

제 15 항에 있어서, 상기 항고혈압제가 레세핀(reserpine)인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 19】**

제 15 항에 있어서, 상기 빈카 알칼로이드(Vinca alcaloid)가 빈크리스틴(vincristine), 또는 빈블라스틴(vinblastine)인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 20】**

제 15 항에 있어서, 상기 스테로이드가 프로게스테론인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 21】**

제 15 항에 있어서, 상기 항부정맥제가 아미오다론(amiodarone), 또는 쿠니딘(quinidine)인 파크리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 22】**

제 15 항에 있어서, 상기 구충제가 쿠나크린(quinacrine), 또는 쿠닌(quinine)인  
파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 23】**

제 15 항에 있어서, 상기 면역억제제가 사이클로스포린(cyclosporine)류, 스타우로  
스포린(staurosporine) 및 태크로리미스(tacrolimus)로 구성되는 군 중에서 선택되는 파  
클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 24】**

제 12 항에 있어서, 상기 간대사저해제가 사이클로스포린 A, 독소루비신  
(doxorubicin), 에토포사이드(etoposide, VP-16), 및 시스플라틴(cisplatin)으로 구성되  
는 군에서 선택되는 항암제, 베라파밀(verapamil), 또는 타모시펜(tamoxifen)인 것을 파  
크리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 25】**

제 11 항에 있어서, 상기 알코올이 메탄올, 에탄올, 프로판올, 및 이소프로판올로  
구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 26】**

제 11 항에 있어서, 상기 폴리올이 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 및 폴리에틸렌  
글리콜로 이루어진 군에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 27】**

제 1 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항에 있어서, 경구투여, 구강내 투여, 점막투여, 비강내투여, 복강내 투여, 피하주사, 근육주사, 경피 투여 및 종양내 투여로 구성되는 군 중에서 선택되는 투여방법에 의해 투여되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 28】**

1) 조성물의 총 중량을 기준으로, 4 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 모노글리세라 이드계 화합물을 0.01 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 기름에 용해시키는 제 1 단계; 및

2) 상기 제 1 단계에서 얻어진 유성용액에 치료적 유효성분으로서 0.01 내지 20 중량%의 파클리탁셀 분말을 첨가한 후 교반하여 완전히 용해시키는 제 2 단계를 포함하여 구성되는 제 1 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항에 따른 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조방법.

**【청구항 29】**

제 28 항에 있어서, 상기 제 1 단계에서의 용해를 용이하게 하기 위하여 제 1 단계를 50 ℃ 이하로 가열하여 수행하는 방법.

**【청구항 30】**

제 28 항에 있어서, 상기 제 2 단계에서의 용해를 용이하게 하기 위하여 제 2 단계를 50 ℃ 이하로 가열하고 베쓰형 소니케이터에서 소니케이션하여 수행하는 방법.

**【청구항 31】**

조성물의 총 중량을 기준으로, 4 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 모노글리세라이드계 화합물, 0.01 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 기름 및 0.01 내지 20 중량%의 파클리탁셀 분말을 혼합시킨 후, 완전히 용해시키는 단계를 포함하여 구성되는 제 1 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항에 따른 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조방법.

**【청구항 32】**

제 31 항에 있어서, 용해를 돋기 위하여 50 ℃ 이하로 가열하고 베쓰형 소니케이터에서 소니케이션하여 수행하는 방법.

**【청구항 33】**

조성물의 총 중량을 기준으로, 한 가지 이상의 모노글리세라이드계 화합물 4~90 중량%, 한 가지 이상의 기름 0.01~90 중량%, 한 가지 이상의 유화제 0.01~90 중량% 및 파클리탁셀 0.01 ~ 20 중량%를 포함하는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 34】**

제 33 항에 있어서, 상기 모노글리세라이드계 화합물이 탄소수 10 내지 22 개의 포화 또는 불포화된 모노글리세라이드계 화합물인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 35】**

제 34 항에 있어서, 상기 모노글리세라이드계 화합물이 모노올레인, 모노팔미톨레인, 모노미리스톨레인, 모노일레이딘, 모노이루이신, 및 식물성 또는 동물성 기름의 트리글리세라이드로부터 반합성된 모노글리세라이드의 혼합물로 구성된 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 36】**

제 33 항에 있어서, 상기 기름이 트리글리세라이드, 요오드화 기름, 식물성 및 동물성 기름으로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 37】**

제 36 항에 있어서, 상기 트리글리세라이드가 탄소수 2 내지 20개의 포화 또는 불포화 트리글리세라이드인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 38】**

제 37 항에 있어서, 상기 트리글리세라이드가 트리아세틴, 트리부티린, 트리카프로인, 트리카프릴린, 트리카프린 및 트리올레인으로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 39】**

제 37 항에 있어서, 상기 요오드화 오일이 리파이오돌, 요오드화 양귀비씨 기름, 에티오돌 및 요오드화 대두유로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 40】**

제 37 항에 있어서, 상기 식물성 기름이 콩기름, 면실유, 올리브유, 양귀비씨 기름, 홍화씨기름 및 참기름으로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 41】**

제 37 항에 있어서, 상기 동물성 기름이 스쿠알란 또는 스쿠알렌인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 42】**

제 33 항에 있어서, 상기 유화제가 인지질, 비이온성 계면 활성제, 음이온성 계면 활성제, 양이온성 계면 활성제 및 담즙산으로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 43】**

제 42 항에 있어서, 상기 인지질이 포스파티딜콜린 (PC) 유도체, 포스파티딜에탄올아민 (PE) 유도체, 포스파티딜세린 (PS) 유도체 및 친수성 고분자가 결합된 지질 (polymeric lipid)로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 44】**

제 42 항에 있어서, 상기 비이온성 계면 활성제가 폴록사머 (Poloxamer; Pluronic; 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 공중합체), 솔비탄 에스테르 (Sorbitan esters; Span), 폴리옥시에틸렌 솔비탄 (polyoxyethylene sorbitans; Tween) 및 폴리옥시에틸렌 에테르 (polyoxyethylene ethers; Brij)로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 45】**

제 42 항에 있어서, 상기 음이온성 계면 활성제가 포스파티딜세린 (PS) 유도체, 포스파티딘산 (PA) 유도체 및 소듐 도데실 살피아이트 (SDS)로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 46】**

제 42 항에 있어서, 상기 양이온성 계면 활성제가 1,2-다이올레일-3-트리메틸암모니움 프로판 (DOTAP), 다이메틸 다이옥타데실암모니움 클로라이드 (DDAB), N-[1-(1,2-다이올레일옥시)프로필]-N,N,N-트리메틸암모니움 클로라이드 (DOTMA), 1,2-다이올레일-3-에틸포스포콜린 (DOEPC) 및 3 $\beta$ -[N-[N',N'-다이메틸아미노)에탄]카바모일]콜레스테롤 (DC-Chol)으로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 47】**

제 42 항에 있어서, 상기 담즙산은 콜린산, 그의 염 또는 그의 유도체, 데옥시콜린산, 그의 염 또는 그의 유도체, 체노콜린산, 그의 염 또는 그의 유도체, 및 리토콜린산, 그의 염 또는 그의 유도체로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 48】**

제 33 항에 있어서, 조성물의 총 중량에 대하여 0.01 ~ 5 중량%의 첨가제를 추가적으로 포함하는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 49】**

제 48 항에 있어서, 상기 첨가제가 크레모포어, 토코페롤, 토코페롤 아세테이트, 지방산, 지방산의 에스테르류, 지방산의 알코올류, 난용성 약물, 알코올 및 폴리올로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 50】**

제 49 항에 있어서, 상기 난용성 약물이 항암제, P-당단백질 억제제 및 간대사제제로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 51】**

제 50 항에 있어서, 상기 항암제가 독소루비신, 시스플라틴, 카보플라틴, 카무스틴 (BCNU), 다카바진, 에도포사이드, 플루오로우라실 (5-FU) 및 파클리탁셀 유도체로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 52】**

제 50 항에 있어서, 상기 파클리탁셀 유도체가 도시탁셀, 브로모탁셀 및 탁소티어로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 53】**

제 50 항에 있어서, P-당단백질 억제제가 신코닌, 칼슘 채널 저해제, 칼모듈린 길항제, 빈카 알칼로이드, 항부정맥제, 스테로이드, 항고혈압제, 구충제, 및 면역억제제로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 54】**

제 53 항에 있어서, 상기 칼슘 채널 저해제가 베라파밀, 니페디핀, 니카디핀, 및 니트렌디핀으로 구성되는 군 중에서 선택되는 디히드로페리딘인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 55】**

제 53 항에 있어서, 상기 칼모듈린 길항제가 트리플루오로페라진인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 56】**

제 53 항에 있어서, 상기 항고혈압제가 레세핀인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 57】**

제 53 항에 있어서, 상기 빈카 알칼로이드(Vinca alcaloid)가 빈크리스틴 또는 빈블라스틴인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 58】**

제 53 항에 있어서, 상기 스테로이드가 프로게스테론인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 59】**

제 53 항에 있어서, 상기 항부정맥제가 아미오다론 또는 쿠니딘인 파크리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 60】**

제 53 항에 있어서, 상기 구충제가 쿠나크린 또는 쿠닌인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 61】**

제 53 항에 있어서, 상기 면역억제제가 사이클로스포린류, 스타우로스포린 및 태크로리머스로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 62】**

제 50 항에 있어서, 상기 간대사저해제가 사이클로스포린 A, 독소루비신, 에토포사이드(VP-16), 및 시스플라틴으로 구성되는 군에서 선택되는 항암제, 베라파밀, 또는 타모시펜인 것을 파크리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 63】**

제 49 항에 있어서, 상기 알코올이 메탄올, 에탄올, 프로판올, 및 이소프로판올로 구성되는 군 중에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 64】**

제 49 항에 있어서, 상기 폴리올이 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 및 폴리에틸렌글리콜로 이루어진 군에서 선택되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 65】**

제 33 항 내지 제 64 항 중 어느 한에 있어서, 경구투여, 구강내 투여, 점막투여, 비강내투여, 복강내 투여, 피하주사, 근육주사, 경피 투여 및 종양내 투여로 구성되는 군 중에서 선택되는 투여방법에 의하여 투여되는 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

**【청구항 66】**

- 1) 조성물의 총 중량을 기준으로, 4 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 모노글리세라 이드계 화합물, 0.01 내지 90 주량%의 한 가지이상의 기름을 0.01 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 유화제와 함께 50 °C 이하로 가온하여 완전히 용해시켜 점성의 액체를 만드는 제 1 단계; 및
- 2) 상기 제 1 단계에서 얻어진 점성의 액체를 0.01 내지 20 중량%의 파클리탁셀과 혼합하여 균일한 상을 제조하는 제 2 단계를 포함하여 구성되는 제 33 항 내지 64 항 중 어느 한 항에 따른 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조방법

**【청구항 67】**

제 66 항에 있어서, 제 1 단계에서의 용해를 용이하게 하기 위하여 상기 제 1 단계를 50 °C 이하로 가열하여 수행하는 방법.

**【청구항 68】**

제 66 항에 있어서, 제 2 단계에서의 용해를 용이하게 하기 위하여 상기 제 2 단계를 50 °C 이하로 가열하여 수행하는 방법

**【청구항 69】**

제 66 항에 있어서, 제 2 단계에서의 용해를 용이하게 하기 위하여 상기 제 2 단계를 베쓰형 소니케이터에서 소니케이션하여 수행하는 방법.

## 【청구항 70】

1) 조성물의 총 중량을 기준으로, 0.01 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 기름을 0.01 내지 20 중량%의 파클리탁셀과 완전히 용해시켜 파클리탁셀 용액을 만드는 제 1 단계.

2) 상기 제 1 단계에서 얻어진 파클리탁셀 용액을 0.01 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 유화제 및 4 내지 90 중량%의 한 가지 이상의 모노글리세라이드계 화합물과 혼합하여 균일한 상을 제조하는 제 2 단계를 포함하여 구성되는 제 33 항 내지 제 64 항 중 어느 한 항에 따른 파클리탁셀의 가용화용 조성물의 제조방법.

## 【청구항 71】

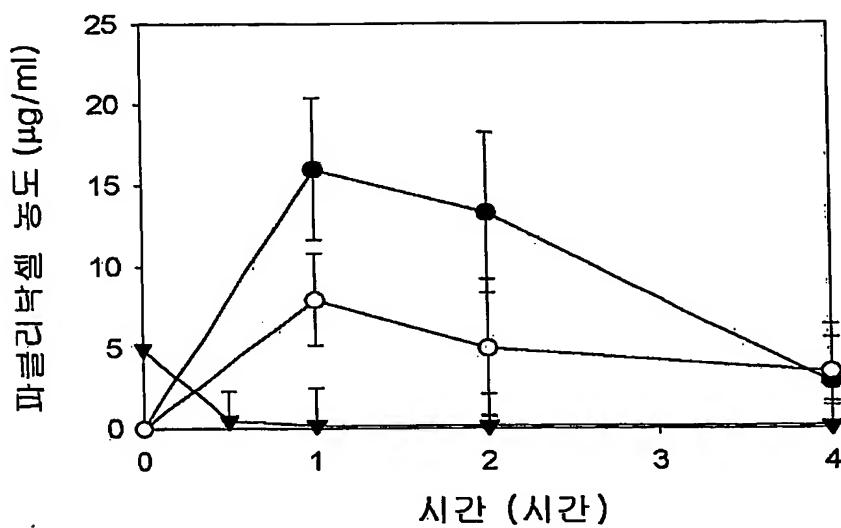
제 70 항에 있어서, 제 2 단계에서의 용해를 용이하게 하기 위하여 상기 제 2 단계를 50 °C 이하로 가열하고 베쓰형 소니케이터에서 소니케이션하여 수행하는 방법.

## 【청구항 72】

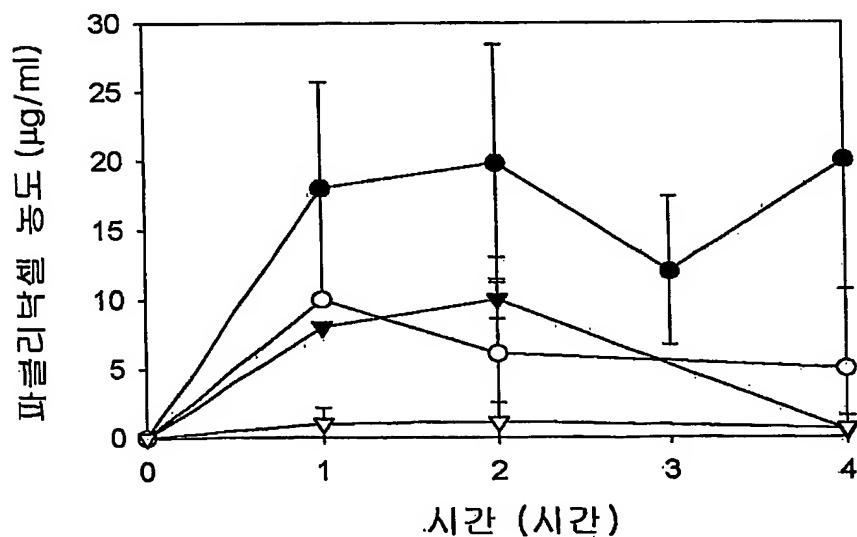
제 1 항 내지 제 26 항 및 제 33 항 내지 제 64 항 중 어느 한 항에 있어서, 상온에서 액상 또는 반고상인 파클리탁셀의 가용화용 조성물.

## 【도면】

【도 1】



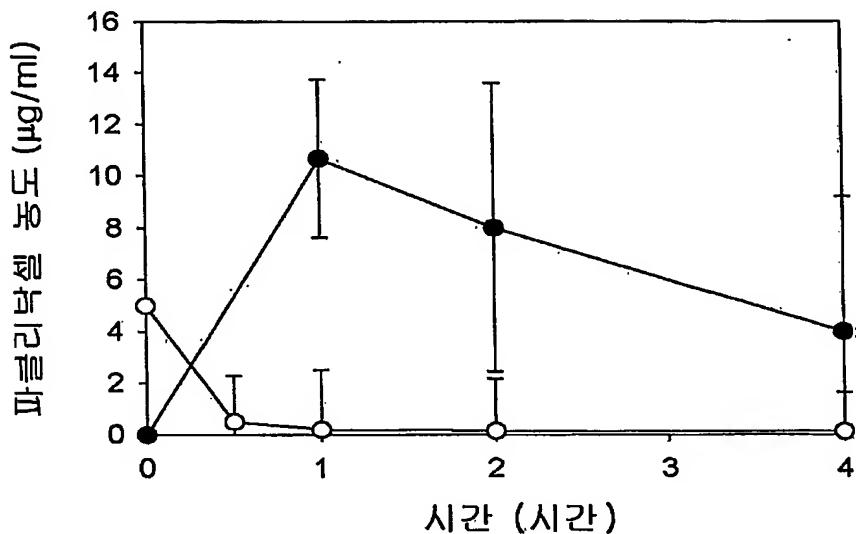
【도 2】



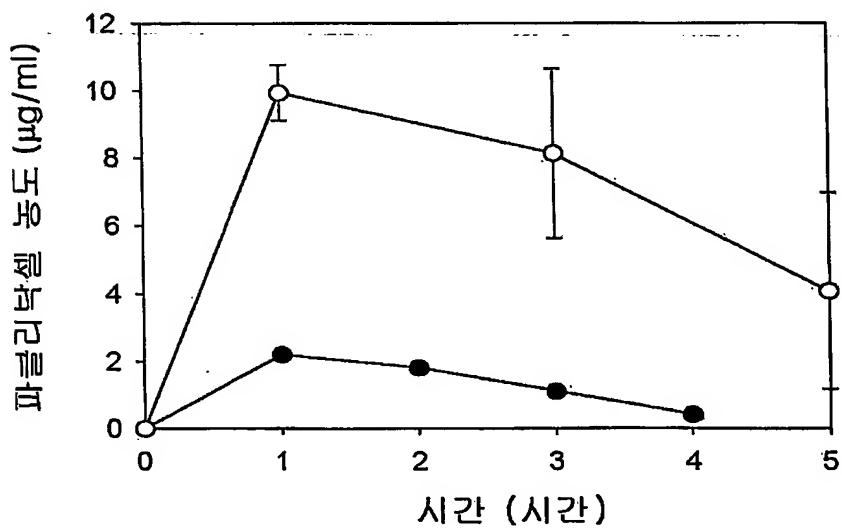
1020020042791

출력 일자: 2003/7/15

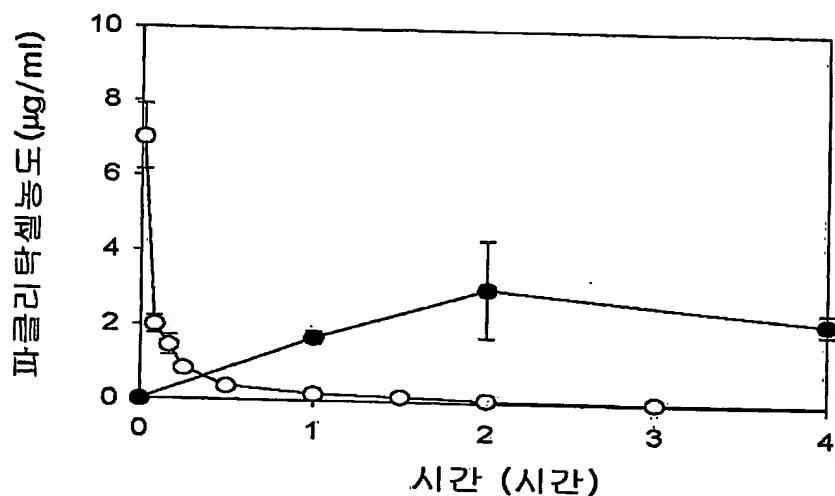
【도 3】



【도 4】



【도 5】



【도 6】

